

Étude et développement d'un dispositif de piégeage en conditions semi-naturelles pour les femelles de la mouche du melon *Bactrocera cucurbitae*, (Diptera : Tephritidae) à La Réunion



Responsable : **Serge Quilici**

CIRAD – UMR PVBMT

Pôle de protection des Plantes

Saint Pierre, Ile de La Réunion

Lucile MULLER

Master 2 Recherche SVS

Option Biologie Santé de l'environnement

Spécialité Protection des cultures et Agro-environnement

Année universitaire : 2013/2014

Résumé

La mouche du melon *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera : Tephritidae) représente un fléau pour les cultures de Cucurbitaceae à La Réunion. Les dégâts sont occasionnés par l'oviposition des femelles dans les fruits. A l'heure actuelle il n'existe pas d'attractif puissant permettant de gérer les populations de femelles de cette espèce. L'utilisation de kairomones apparaît comme une solution prometteuse dans le cas de *B. cucurbitae*. De récentes études, menées en conditions de laboratoire, ont permis d'identifier un mélange deux composés volatils étant aussi attractifs que l'odeur du concombre frais pour les femelles de cette espèce. C'est dans ce contexte que la présente étude propose de développer un dispositif de piégeage efficace en conditions semi-naturelles, utilisant comme attractif ce mélange. L'efficacité d'un diffuseur de type lanière polymérique a été étudiée par des tests comportementaux en conditions contrôlées et semi-naturelles. Associée aux diffuseurs, cette étude propose un système de piégeage efficace permettant la capture des femelles de *B. cucurbitae*. Pour ce faire, l'évaluation de deux systèmes de piégeage (McPhail et TephriTrap) suivant différentes modalités (couleur, forme) ont permis d'identifier un dispositif de piégeage permettant d'attirer significativement plus de mouches. L'efficacité du diffuseur associé à un piège de type TephriTrap a été évaluée par des tests comportementaux en conditions semi-naturelles. Ces résultats sont porteurs d'une solution prometteuse pour les techniques de piégeage de masse des femelles de *B. cucurbitae* en champs.

Mots clés : stimuli olfactif, interactions plante/insecte, olfactomètre, système de piégeage, diffuseur polymérique

Abstract

The female melon fly *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera : Tephritidae) is a serious pest for cucurbit crops in Reunion Island. Damages are caused by female oviposition in fruits. Nowadays no powerful attractant exists to control these female populations. The use of kairomones seems to be a promising solution for controlling *B. cucurbitae*. Recents studies, have identified a blend of volatils compounds which are as attractive as the odor of fresh cucumber. In this context, this study propose to develop a trap system usefull in semi-field conditions. The efficiency of polymeric diffuser had been studied by behaviour tests in laboratory and semi-field conditions. This study propose also a usefull trap which can catch females of *B. cucurbitae*. To determinate this, the efficiency of two different traps (ThephriTrap and Mc Phail) according different modalities (shape, color) were tested. According these results, the efficiency of the whole trap system (diffuser and trap) was tested in semi-field conditions. These results suggest a good solution for the mass trapping of *B.cucurbitae* females's.

Key words : olfactiv stimuli, insect-plant relation ship, olfactometer, trap system, polyméric difuseur

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Serge Quilici qui m'a permis de réaliser ce stage au sein de son équipe et qui a su me transmettre sa passion des mouches des fruits.

Merci particulièrement à la Reine des mouches : Toulassi. Merci de m'avoir transmis tes connaissances et ta passion pour la recherche. Tes conseils, ton soutien et ta confiance ont été précieux pour moi

Ainsi que toute l'équipe qui a contribué au bon déroulement de mon stage :

Samuel Nibouche pour ses précieux conseils et pour ses relectures.

Les techniciens : Serge, pour avoir élevé un nombre incalculable de tites mouches, Jim, pour sa bonne humeur, sa prévoyance métrologique. Ainsi que ceux m'ayant apporté leur aide : Morguen, Pierre-François, Moutou, Martial, Richard, Oriane, Sandrine...

Je remercie aussi tous les stagiaires : Mon voisin de bureau, Thomas, pour ses conseils, ses blagues, tu remercieras Robert pour moi. Mes voisines de box : Sarah pour sa patience avec les olfactos et ses histoires de mouches (surtout celles d' *N.c*), Angélique, Tachi, Béa, Maéva.

Mes collocs qui m'ont supportée pendant ces 6 mois. : Socha, son aide, pour tous ces souvenirs, ces sons, ces aventures ; Michou : pour ses petits plats pimentés et ses pas de danse rythmés, Papé : pour sa créativité musicale, Léo : pour sa zen attitude et sa compassion, Yanou : pour sa musique et ses débats sans fin.

Enfin, je tiens à remercier ma famille et mes amis m'ont toujours soutenue et qui continuent de me soutenir même à 10 000km de distance.

Sommaire

Introduction bibliographique.....	5
1 Les mouches des fruits, principaux ravageurs des cultures	5
2 La mouche du melon : <i>Bactrocera cucurbitae</i>	6
2.1 Bioécologie et dégâts.....	6
2.2 Méthodes de lutte et principales contraintes.....	7
3 Écologie chimique des interactions plantes-insectes phytophages.....	7
3.1 La phase de localisation à distance de l'hôte.....	8
3.2 Les composés volatils de plantes.....	8
4 Écologie chimique de l'espèce avec ses plantes-hôtes.....	9
5 Méthode d'analyse de la médiation chimique entre une plante et un insecte.....	10
5.1 Détermination des composés volatils identifiés par l'insecte.....	10
5.2 Essais comportementaux en conditions contrôlées.....	10
5.3 Essais comportementaux en conditions semi-naturelles.....	10
5.4 Finalisation des tests : essais au champ.....	11
Objectifs de stage :	12
Matériels et Méthodes :	13
1 Matériels utilisés :	13
1.1 Matériel biologique :	13
1.2 Matériel végétal :	13
1.3 Nature des composés attractifs.....	14
1.3.1 Composés de synthèse	14
1.3.2 Lanières polymériques	14
2 Méthodes utilisées :	14
2.1 Procédures générales :	14
2.1.1 Dispositif expérimental en conditions contrôlées : Olfactomètre à une voie.....	14
2.1.2 Dispositif expérimental en conditions semi-naturelles : Grandes cages de comportement.....	15
2.2 Procédures spécifiques :	16
2.2.1 Expérience 1 : Attraction du nonanol en mélange.....	16
2.2.2 Expérience 2 : Attractivité des lanières polymériques en conditions contrôlées..	16
2.2.3 Expérience 3 : Choix du système de piégeage en conditions semi-naturelles.....	17
2.2.4 Expérience 4 : Attractivité des lanières polymériques en conditions semi-naturelles...	18
2.2.5 Expérience 5 : Attractivité de plusieurs quantités de lanières en conditions semi-naturelles.....	18
2.2.6 Expérience 6 Amélioration du dispositif de piégeage.....	18
2.3 Analyses statistiques :	19
Résultats et discussions.....	20
1 Expérience 1: Attraction du nonanol en mélange.....	20
2 Expérience 2: Attractivité des lanières polymériques en conditions contrôlées.....	22
3 Expérience 3: Choix du système de piégeage en conditions semi-naturelles.....	23
4 Expérience 4 :Attractivité des lanières polymériques en conditions semi-naturelles.....	25
5 Expérience 5 :Attractivité de plusieurs quantité de lanières en conditions semi-naturelles.....	26
6 Expérience 6 : Amélioration du système de piégeage.....	27
Conclusion et perspectives :	28
Glossaire :	30
Références	31

Introduction bibliographique

Ce stage s'inscrit dans la formation du Master Recherche de deuxième année en Biologie et Santé de l'Environnement, spécialisée en Protection des cultures et Agro-environnement de l'Université de Nice Sophia Antipolis. Il s'est déroulé au sein du Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), plus particulièrement dans l'Unité Mixte de Recherche : Peuplements Végétaux et Bio-agresseurs en Milieu Tropical. Le siège de cette unité se situe au sein des laboratoires du Pôle de Protection des Plantes de Saint-Pierre, à La Réunion.

Faisant partie de l'archipel des Mascareignes dans l'Océan Indien, ce département d'Outre-Mer est soumis à un climat tropical qui se caractérise par une saison sèche et fraîche (mai à octobre), suivie d'une saison chaude et humide (novembre à avril) avec des amplitudes thermiques peu importantes. Ces conditions climatiques tropicales offrent à La Réunion une possibilité de production agricole très vaste et étendue sur l'année. En effet, l'agriculture joue un rôle économique, sociétal et environnemental important sur l'île. La surface agricole utile occupe 20 % de la superficie de l'île. Dans une optique de diversification de son agriculture, on observe depuis quelques années une augmentation des cultures maraîchères et fruitières à La Réunion. Ces cultures tropicales (mangue, ananas, etc.) ou tempérées (pomme de terre, fraise, etc.) sont particulièrement sensibles aux attaques d'insectes ravageurs. La gestion de ces populations s'inscrit comme étant un enjeu de taille dans la protection des cultures. De ce fait, le CIRAD oriente à La Réunion une grande partie de ces activités à la protection des cultures. L'un des modèles d'étude privilégié est les « Mouches des fruits » qui constitue l'un des principaux groupe de ravageurs des cultures fruitières et maraîchères de la Réunion.

1 Les mouches des fruits, principaux ravageurs des cultures

Les espèces de la famille des Tephritidae, communément appelées « Mouches des fruits », constituent les principaux ravageurs des cultures maraîchères et fruitières de l'île. Cette famille, est reconnue au niveau mondial comme causant d'importantes pertes de production et impliquant des dommages économiques considérables. Leur aire de répartition est large, allant des régions tempérées aux régions subtropicales et tropicales (Miller et *al.*, 2004). Sur les 4000 espèces faisant partie de cette famille, 250 sont considérées comme étant d'importants ravageurs des cultures. A La Réunion, on retrouve 22 espèces, dont quatre étant considérées comme d'important ravageurs des cultures maraîchères (Ryckewaert et *al.*, 2010).

Sur les cultures de Cucurbitacées, on retrouve particulièrement l'espèce *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett), aussi appelée, la « mouche du melon ». Les dégâts causés par cette espèce étant considérables, la gestion de ces populations fait l'objet de nombreux projets de recherche, dans lequel s'inscrit ce stage.

2 La mouche du melon : *Bactrocera cucurbitae*

Originaire d'Asie, son aire de répartition s'étend aujourd'hui jusqu'en Afrique, ainsi que dans quelques îles du Pacifique et de l'océan Indien (Orian and Moutia, 1960). Considérée comme l'un des Tephritidae ayant la plus grande importance économique au monde (White et *al.*, 1992) cette espèce figure sur les listes de quarantaine en Europe, Asie, et dans les Caraïbes (Vayssieres and Carel, 1999)

2.1 Bioécologie et dégâts

A travers le monde, les dégâts occasionnés par les insectes ravageurs sont principalement dus aux insectes phytophages, leur régime alimentaire étant exclusivement composé de matériel végétal (Vayssières et *al.*, 2001). *B. cucurbitae* est une espèce considérée comme étant polyphage*, car on la retrouve sur les espèces de trois familles : les Cucurbitaceae, les Passifloraceae et les Solanaceae. Toutefois, à La Réunion, elle est plutôt considérée comme oligophage*, car elle ne s'attaque qu'à 16 espèces appartenant toutes à la famille des Cucurbitaceae (Vayssieres and Carel, 1999). De ce fait, les femelles ont développé un comportement de recherche spécifique de leur plantes-hôtes afin d'assurer la survie de leur descendance. Après sélection de la plante-hôte, les femelles pondent leurs œufs sous l'épiderme du fruit. Un à trois jours après, les larves se développent et consomment la pulpe du fruit, entraînant d'importants dégâts sur le fruit et le rendant impropre à la consommation. Au bout de quatre à cinq jours, les larves vont « sauter » hors du fruit pour finir leur dernière phase de développement pré-imaginal sous forme de pupes* dans le sol (Bateman, 1972). Elles restent sous cette forme pendant une à deux semaines avant d'émerger. Quinze jours après leur émergence, les adultes atteignent leur maturité sexuelle. Le régime alimentaire des adultes est essentiellement composé de protéines (fèces d'oiseau), essentielles pour le développement des œufs des femelles. De ce fait, le site de ponte n'est pas lié à la prise alimentaire des femelles (Dhillon et *al.*, 2004).

22 Méthodes de lutte et principales contraintes

Les dégâts occasionnés par le développement des larves de *B. cucurbitae* sur les fruits des cultures de Cucurbitaceae sont considérables, Vayssieres and Carel, (1999) estiment que ces dégâts peuvent engendrer des pertes de récoltes allant jusqu'à 90% de la production. Les enjeux économiques et écologiques qui en découlent font de cette espèce l'un des principaux ravageurs à La Réunion. Les Instituts de Recherches ont développé différents moyens de lutte afin de réguler ces populations (Knipling, 1955). L'une des voies de gestion alternative à la lutte chimique est le piégeage de masse. Cette technique vise à attirer les insectes ravageurs par le biais de leurres afin de réguler les populations. Ces leurres sont associés à un piège, permettant de capturer les individus ayant été attirés. Les leurres peuvent être des attractifs sexuels de type paraphéromones* sexuelles (Cue-lure), exclusivement attractifs pour les mâles (Miller et al., 2004). Des leurres alimentaires (Nu-lure) ont aussi montré leur efficacité en champs pour l'attraction des mâles et des femelles des ravageurs. Cependant, cette méthode montre de nombreux inconvénients : distance d'attraction réduite, durée de vie au champ limitée, contraintes d'utilisation et attraction d'espèces non-cibles (Siderhurst and Jang, 2010). Pouvoir réguler les populations de femelles de *B. cucurbitae* permettrait d'agir en amont de la ponte et donc de diminuer de manière significative les dégâts occasionnés sur les cultures. La période de pré-oviposition* des femelles est caractérisée par la recherche d'un site de ponte propice pour le développement des larves (Cornelius et al., 2000). Les femelles utilisent un certain nombre de caractéristiques offertes par l'environnement pour pouvoir s'orienter dans celui-ci et trouver leurs plantes-hôtes. L'objectif de ce stage est de développer un système de piégeage capable de capturer les femelles de *Bactrocera cucurbitae* durant leur période de pré-oviposition afin de diminuer les dégâts sur les cultures de Cucurbitaceae. Pour cela, les interactions spécifiques entre le ravageur et ses plantes hôtes sont étudiées, ce domaine d'étude fait appel à l'écologie chimique et plus particulièrement à la médiation chimique spécifique entre une espèce d'insecte et ses plantes-hôtes.

3 Écologie chimique des interactions plantes-insectes phytophages

Le domaine de l'écologie chimique s'intéresse aux interactions chimiques entre organismes vivants. Dans notre cas, nous utiliserons précisément les interactions chimiques entre les femelles de *B. cucurbitae* et ses plantes-hôtes, les Cucurbitaceae. Ces interactions sont utilisées par le ravageur pour pouvoir s'orienter dans l'environnement et sélectionner sa plante-hôte. Pour cela, l'insecte utilise un certain nombre de stimuli*, visuels, olfactifs, mécano-réceptifs... selon la distance de l'hôte.

Dans le cas des insectes phytophages, le comportement de sélection de l'hôte comprend deux phases consécutives; une phase de localisation à distance de l'hôte par le biais de stimuli visuels et olfactifs et une phase de reconnaissance au contact par le biais de stimuli olfactifs et tactiles (Cornelius et *al.*, 2000). Dans le cas de ce stage, et suivant son objectif, nous nous intéresserons particulièrement à la première étape, la phase de localisation à distance de l'hôte.

3.1 La phase de localisation à distance de l'hôte

Durant la phase de localisation à distance, les insectes utilisent particulièrement le sens de la vision et de l'odorat pour s'orienter à longue distance (Bernays and Chapman, 1994). La perception des stimuli visuels et olfactifs passe par des systèmes sensoriels distincts, mais ayant le même fonctionnement neuronal. En effet, l'unité de base du système sensoriel des insectes est le neurone. Les cellules sensorielles, généralement situées sous la cuticule, présentent des spécialisations différentes. De ce fait, les insectes sont capables de différencier la qualité d'un stimulus, d'identifier sa nature, mais aussi son degré d'intensité (Visser and Jong, 1988). Dans le cas des femelles gravides* de la mouche du melon, une synergie des stimuli visuels et olfactifs a été observée comme étant essentielle dans la localisation à distance de la plante-hôte (Piñero et *al.*, 2006). Les stimuli visuels sont caractérisés par la forme et la couleur de la plante, les stimuli olfactifs eux, sont caractérisés par les composés volatils synthétisés par les plantes et entraînant une réponse des insectes lorsqu'ils les perçoivent. Ainsi, ces composés volatils de plante-hôte peuvent être utilisés comme source d'attractif pour les insectes. L'utilisation de ces composés volatils comme leurres dans l'objectif d'attirer les femelles de la mouche du melon s'avère être un champ d'investigation prometteur.

3.2 Les composés volatils de plantes

Les composés volatils sont des molécules étant synthétisées par les plantes. Ils peuvent être classés en quatre classes suivant leur voie de synthèse : les terpènes, les phénylpropanoïdes/benzénoïdes, les dérivés d'acides gras et les dérivés d'acides aminés. Chaque plante est caractérisée par un ensemble de composés volatils (bouquet d'odeur) qui lui est propre. Les insectes utilisent donc cet assemblage caractéristique pour s'orienter dans l'environnement et localiser leur plante-hôte (Bradbury and Vehrencamp, 2000). Dans le cas des relations phytophages-plantes, les composés attractifs sont des kairomones*. Ces molécules sont des substances chémiochimiques* émises naturellement par la plante et qui sont détectées et utilisées par le ravageur pour localiser celle-ci dans son environnement.

La perception de ces composés volatils par les insectes est un domaine d'étude très complexe. Il a été montré que la localisation d'une plante-hôte est fortement liée aux flux d'air (Brévault and Quilici, 2010) qui véhiculent des composés volatils spécifiques émis par les plantes-hôtes. Les insectes identifient soit un mélange de composés volatils en proportions variables, soit des composés individuels (Bruce et *al.*, 2005). L'attractivité d'un mélange pour un insecte va dépendre de sa qualité et des quantités des différents composés (Bruce and Pickett, 2011).

En effet, il a été démontré qu'un grand nombre d'insectes phytophages répondent à des odeurs généralistes de plantes (Bruce et *al.*, 2005) mais que diverses espèces répondent différemment suivant des ratios de composés différents (Natale et *al.*, 2003). De ce fait, les interactions chimiques entre les insectes et leurs plantes-hôtes sont spécifiques, il s'avère donc intéressant d'étudier le cas particulier de la médiation chimique entre *B.cucurbitae* et de ses plantes-hôtes.

4 Écologie chimique de l'espèce avec ses plantes-hôtes

L'identification et la caractérisation des composés volatils émis par les plantes de Cucurbitacées ont été réalisées récemment par Atiama-Nurbel et *al.* (2014). Ces travaux ont permis de caractériser les stimuli olfactifs impliqués dans la localisation à distance par les femelles de *B. cucurbitae* d'une large gamme de fruits-hôtes de Cucurbitaceae sauvages et cultivées de La Réunion. Une approche bi-disciplinaire (comportementale et chimique) a permis d'identifier, parmi 27 fruits-hôtes, les composés volatils attractifs pour les femelles. Il s'agit de composés caractéristiques des odeurs de Cucurbitaceae (alcools et aldéhydes en C9), et des odeurs vertes (alcools et aldéhydes en C6). Parmi les 10 composés testés, le nonanol, le (6Z)-non-6-énal, le (6Z)-non-6-én-1-ol et le (2E,6Z)-nona-2,6-diéнал ont permis d'attirer le plus de femelles (au moins 40% de réponse). Trois mélanges de composés se sont avérés aussi attractifs que le concombre frais (~60% de réponse). Parmi ceux-ci, se trouve un mélange à deux composés ((6Z)-non-6-én-1-ol et (2E,6Z)-nona-2,6-diéнал) qui constitue par sa simplicité et son fort taux d'attraction, une solution dans l'élaboration d'attractifs pour les femelles de *B. cucurbitae*. Ces récents travaux ouvrent donc des champs d'investigation prometteurs dans la régulation des populations de ce ravageur.

La mise en place d'un piégeage de masse utilisant comme attractif ce mélange à deux composés volatils permettrait de réguler les populations de femelles de *B.cucurbitae*.

En effet, pouvoir utiliser au champs un leurre aussi attractif pour les femelles de *B. cucurbitae* que l'odeur de fruits frais, permettrait de piéger ce ravageur avant la période de sensibilité des fruits et donc de diminuer de manière significative les dégâts occasionnés.

5 Méthode d'analyse de la médiation chimique entre une plante et un insecte

5.1 Détermination des composés volatils identifiés par l'insecte

Avant de pouvoir tester l'attractivité pour les insectes de phéromones ou de composés volatils, il est nécessaire d'identifier et de sélectionner parmi les bouquets odorants des fruits et/ou des plantes à étudier, ceux impliqués dans les processus d'attraction. Pour cela, l'électroantennographie* couplée à la chromatographie en phase gazeuse* est une technique précise qui permet d'identifier les molécules d'une plante ou d'un fruit entraînant une réaction antennaire de l'insecte (Siderhurst and Jang, 2010 ; Bruce et *al.*, 2005) Des tests comportementaux permettent ensuite de préciser la nature de la réaction.

5.2 Essais comportementaux en conditions contrôlées

Une fois les composés à tester sélectionnés, des tests de comportement permettent d'identifier la nature de la réaction biologique, à savoir s'il s'agit d'un phénomène d'attraction, de répulsion ou neutre. Le tunnel de vol et l'olfactométrie sont couramment utilisés dans ce but (Siderhurst and Jang, 2010). Ces techniques permettent d'étudier les comportements tout en contrôlant les modalités d'expérimentation (lumière, température, humidité, flux d'air etc.). Les olfactomètres peuvent être à 1, 2 (en Y par exemple) ou plusieurs voies, permettant ainsi de tester la réponse des insectes en situation de choix. Dans le cas des olfactomètres à une voie, on quantifie la réponse de l'espèce par la détermination du taux d'attraction ($\text{nombre d'individu capturé} / \text{nombre d'individu total} * 100$) de l'espèce pour le mélange ou le produit considéré .

5.3 Essais comportementaux en conditions semi-naturelles

Lorsqu'un composé ou un mélange a pu être identifié au laboratoire comme étant attractif pour une espèce d'insectes, il peut ensuite être testé en conditions semi-naturelles dans des pièges (Bruce et *al.*, 2005; Siderhurst and Jang, 2010). De grandes cages de comportement sont généralement utilisées dans ce but. Ce dispositif permet de d'étudier le comportement des insectes en conditions extérieures tout en contrôlant certains facteurs (nombre d'individus, dispositif de piégeage). On utilise ces techniques afin évaluer l'efficacité des pièges suivant le mélange et l'espèce considérée.

5.4 Finalisation des tests : essais au champ

Après avoir déterminé l'efficacité des pièges en conditions semi-naturelles, l'efficacité réelle du mélange ou du produit peut être déterminée au champ. Durant cette étape, le nombre de pièges par hectare nécessaires est déterminé. L'évaluation de l'attraction d'espèces non-cibles est aussi à envisager.

Objectifs de stage :

La problématique de recherche de ce stage s'inscrit dans la gestion durable de la population des femelles du principal ravageur des cultures de Cucurbitacées à La Réunion : La mouche du Melon, *Bactrocera cucurbitae*. A l'heure actuelle il n'existe pas d'attractif puissant permettant de gérer les populations de femelles de cette espèce. L'utilisation de kairomones apparaît comme une solution prometteuse dans le cas de *B. cucurbitae*.

De récentes études ont permis de mettre en évidence un mélange synthétique simple de deux composés volatils issus des plantes-hôtes de *B. cucurbitae*, engendrant un fort taux d'attraction des femelles en conditions contrôlées. L'objectif principal de ce stage est de procéder à l'application en conditions semi-naturelles d'un dispositif de piégeage utilisant ce mélange de composés volatils.

La mise en place d'un dispositif de piégeage nécessite un diffuseur permettant à la fois une bonne diffusion des composés volatils et un procédé empêchant les femelles de ressortir du piège.

Pour répondre à cette problématique, plusieurs objectifs sont posés :

Dans un premier temps, évaluer le taux d'attraction des femelles de *B. cucurbitae* à des mélanges de composés volatils en conditions contrôlées. Parmi les composés volatils sélectionnés par Atiama-Nurbel, un composé, le nonanol n'a pas été testé en mélange. Ce composé ayant montré un fort taux d'attraction lorsqu'il a été testé de manière individuelle, il s'avère intéressant d'évaluer si sa présence dans des mélanges améliore le taux d'attraction des femelles de *B. cucurbitae*.

Le deuxième objectif de ce stage est d'évaluer l'efficacité des lanières polymériques en conditions contrôlées. Les composés volatils utilisés en tests comportementaux en conditions contrôlées sont sous forme liquide, ils sont instables et non solubles dans l'eau. Face aux facteurs environnementaux des conditions naturelles, il est nécessaire de choisir un diffuseur permettant de prévenir la dégradation des composés volatils et d'émettre un mélange uniforme au cours du temps. Le choix s'est donc porté sur des diffuseurs de type lanière polymérique.

Le troisième objectif est de définir en conditions semi-naturelles, le piège étant le plus efficace pour la capture des femelles de *B. cucurbitae*. En effet, dans une optique d'application de la lanière polymérique en champs comme leurre pour les femelles de *B. cucurbitae*, la mise au point d'un dispositif de piégeage contenant le diffuseur est nécessaire. Ce dispositif de piégeage doit permettre à la fois une bonne diffusion des composés volatils et être un procédé efficace, empêchant les femelles de ressortir du piège.

Enfin, le quatrième objectif est d'évaluer l'efficacité du dispositif de piégeage complet (piège et lanière) en conditions semi-naturelles.

Matériels et Méthodes :

L'ensemble des matériels et méthodes utilisé lors des expérimentations est décrit dans ce chapitre. Une première partie regroupe le matériel biologique, végétal et chimique. La seconde partie reprend les procédures expérimentales utilisées. Un certain nombre d'expérimentations se déroulant suivant les mêmes procédures expérimentales, une différenciation est faite entre les procédures expérimentales générales et les procédures expérimentales spécifiques à chaque expérience.

1 Matériels utilisés :

1.1 Matériel biologique :

L'ensemble des expérimentations a été réalisé avec des femelles de *B. cucurbitae* adultes élevées dans des chambres climatiques en conditions contrôlées ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ d'humidité relative et photopériode de 12 h) pendant 52 générations au laboratoire d'Écologie Terrestre et de lutte intégrée (CIRAD, Pôle de Protection des Plantes). La souche de mouches utilisée était issue de citrouilles (*Cucurbita maxima* L.) infestées et collectées en juin 2000 sur trois localités à La Réunion (Petite Ile, Bassin Martin et Piton Saint Leu). Leur alimentation était constituée de sucre de canne cristallisé et d'hydrolysats enzymatiques de levure de bière (ICN Biomedicals, Aurora, OH, USA), l'apport continu en eau étant assuré par des éponges dont la base est immergée dans un récipient. Les femelles utilisées pour les tests étaient sexuellement matures (25 à 30 jours). Elles ont été prélevées par aspiration à partir des cages d'élevage plusieurs heures avant le début des essais et placées dans les dispositifs expérimentaux.

1.2 Matériel végétal :

Les plantes utilisées en grandes cages de comportement, sont des plantes non-hôtes pour les femelles de *B. cucurbitae*. Pour les bio-essais, des *Ficus benjamina* 'Golden Princess' sont utilisés, taillés à environ 1m50 de haut. Les plants sont issus de la production du CIRAD de Saint-Pierre, La Réunion. La réalisation des bio-essais nécessite aussi l'utilisation de concombre « pays » (*Cucumis sativus* L.), mûrs, n'ayant subi aucun traitement phytosanitaire et étant indemne de toutes attaques de ravageur. Les concombres sont conservés au réfrigérateur et sont sortis à température ambiante 30 minutes avant le début de chaque essai.

1.3 Nature des composés attractifs

1.3.1 Composés de synthèse

Les 4 composés testés proviennent de l'entreprise Sigma-Aldrich (Saint-Louis, MO, USA). Les produits sont purs à > 98%. Ce sont des composés de synthèse de nature liquide. Pour tous les bio-essais, les composés chimiques individuels et en mélange sont utilisés à une dose 5 µL pour le nonanol et de 1µl pour tous les autres composés utilisés. Les quantités sont déposées sur un disque de coton hydrophile (Demak up, SCA Tissue France S.A.S, Bois-Colombe, France).

1.3.2 Lanières polymériques

Les lanières polymériques sont des matières plastiques synthétiques pouvant contenir un principe actif et le libérer de façon continue pendant une période de temps allant de quelques heures à plusieurs mois, en fonction des utilisations. Ces lanières se présentent sous forme de bande de 1 cm de largeur, de couleur transparente opaque. Trois lanières polymériques différentes (AB7 Industrie, France) sont utilisées dans ces bio-essais, deux d'entre elles diffusant un composé volatil et une témoin ne diffusant aucun composé volatil. Afin de faciliter la lecture, le composé (6Z)-non-6-én-1-ol est associé à la lanière « C1 », le composé (2E,6Z)-nona-2,6-diéнал est associé à la lanière « C2 », et le témoin négatif est associé à la lanière « T ». Le taux de diffusion est de 0,625 mg/h/g de lanière C1 et de 0,861 mg/h/g de lanière C2 en conditions de laboratoire et de 0,516 mg/h/g de lanière C1 et de 0,761 mg/h/g de lanière C2 en conditions semi-naturelles. Sauf indications du contraire, les quantités de lanière utilisés sont définies à 0,30 cm pour C1 et 0,20 cm pour C2, (ratio 1:1), pour un taux de diffusion moyen de 0,130 mg/h.

2 Méthodes utilisées :

2.1 Procédures générales :

2.1.1 Dispositif expérimental en conditions contrôlées : Olfactomètre à une voie

Les olfactomètres de laboratoire sont utilisés afin d'évaluer le taux d'attraction des femelles de *B. cucurbitae* à des composés volatils de Cucurbitaceae, de manière individuelle ou en mélange.

Ils sont composés d'un tube cylindrique (84 cm de longueur et 11.5cm de largeur) de polycarbonate clair (Nalgene®, Thermo Scientific, New York) compartimenté en trois chambres consécutives, terminé à la fin par un ventilateur (4 x 4 x 2 cm, 12V, Sunon, Chine) créant un flux d'air (0.35 m s^{-1}) le long du tube. La première chambre (chambre de stockage) contient les mouches ; elle est délimitée par un entonnoir en tissu maillé métallique conduisant à la deuxième chambre (chambre de piégeage), et suivie par la dernière chambre (chambre à odeur) contenant le composé chimique disposé sur un disque de coton. Les olfactomètres sont placés sur une paillasse de laboratoire en série de quatre unités (trois avec un composé volatil et un témoin), qui fonctionnent simultanément. Une source de lumière est disposée au-dessus des quatre olfactomètres afin de créer une lumière homogène de 2000 Lux. Dans chaque olfactomètre, trente femelles sont placées dans la chambre de stockage et sont exposées pendant une heure aux composés chimiques. Les femelles répondant à l'odeur vont s'orienter vers la source de l'odeur, atterrir sur la maille de l'entonnoir et vont être canalisées dans la chambre de capture, où elles seront comptées au bout d'une heure. Entre chaque test, le matériel utilisé est lavé avec de l'eau savonneuse (TFD4, Dominique Dutscher SAS, Brumath, France).

2.1.2 Dispositif expérimental en conditions semi-naturelles : Grandes cages de comportement

Les grandes cages de comportement ont pour objectif d'évaluer l'efficacité d'un dispositif de piégeage en déterminant le taux d'attraction des mouches (nombre de mouches capturées/nombre de mouches total *100). Des cages cylindriques de 3 mètres de diamètre, pour une hauteur de 2,5 mètres sont utilisées (amber HDPE screen cage, Synthetic Industries, Gainesville, USA). Les cages sont disposées sous une toile ombrière. Quatre plantes non hôtes, *Ficus benjamina* 'Golden Princess' en pots, sont disposées au centre de la cage de manière circulaire (40 cm) les unes des autres. Dans chaque cage, 4 systèmes de piégeage sont disposés sur un support à 30 cm au-dessus de chaque plante. Afin de capturer les mouches piégées, on place dans chaque piège une bande de StickyTrap de couleur jaune (plaque engluée) de 15cm*5cm (Koppert B.V, Pays-Bas).

Les essais se déroulent de 9h00 à 14h00, heure locale, relatif aux heures de recherche d'un site d'oviposition pour les femelles (Atiama-Nurbel et al., 2014). Deux heures avant le début de l'expérimentation, 100 femelles de *B. cucurbitae* sont acclimatées dans chaque cage. La disposition des systèmes de piégeage suit une randomisation intra cage. De l'eau et de la ressource alimentaire (sucre en poudre et hydrolysate de protéine) sont mis à disposition dans chaque cage durant toute l'expérimentation. A 14h00, heure locale, le nombre de mouches dans chaque piège est relevé.

22 Procédures spécifiques :

2.2.1 Expérience 1 : Attraction du nonanol en mélange

L'objectif de ces bio-essais est d'évaluer, si l'ajout de nonanol dans un mélange de composés volatils a un effet sur le taux d'attraction des femelles (*cf.* [1.3.1](#) concernant la nature des composés). Cette expérience suit la procédure générale d'expérimentation décrite en [2.1.1](#). Douze traitements différents sont testés : six mélanges à partir des trois composés sélectionnés en présence de nonanol et les six mêmes mélanges, sans nonanol (Tableau 1). 1 μ L de chaque mélange est testé. Chaque traitement (composés simples et en mélange) est répliqué neuf fois, à raison de 6 répétitions par modalité et par jour.

Tableau 1 : Composition en composés volatils synthétiques de chaque mélange testé

	B1	B1s	B2	B2s	B3	B3s	B4	B4s	B5	B5s	B6	B6s
Nonanol	5 μ L	-	5 μ L	-	5 μ L	-	5 μ L	-	5 μ L	-	5 μ L	-
Z-Non-6-en-1-ol	1 μ L	1 μ L	1 μ L	1 μ L	-	-	-	-	1 μ L	1 μ L	-	-
Z-Non-6-enal	-	-	-	-	-	-	1 μ L	1 μ L	-	-	1 μ L	1 μ L
(E,Z)-Nona-2,6-dienal	1 μ L	1 μ L	-	-	1 μ L	1 μ L	-	-	1 μ L	1 μ L	1 μ L	1 μ L

2.2.2 Expérience 2 : Attractivité des lanières polymériques en conditions contrôlées

L'objectif de cette expérience est d'évaluer le taux d'attractivité des femelles de *B. cucurbitae* aux lanières polymériques (*cf.* [1.3.2](#) concernant la nature des composés). Cette expérience suit la procédure générale d'expérimentation décrite en [2.1.1](#). Plusieurs modalités ont été testées (Tableau 2). La modalité M0 est le témoin (olfactomètre sans attractif). On utilise du concombre frais comme témoin positif (Atiama-Nurbel et *al.*, 2014). Ainsi, 30g de concombre frais découpé en dés de 1cm de côté sont disposés dans chaque olfactomètre. Pour les modalités M2, M3, M4 et M5, les quantités de lanières définies sont disposées dans les olfactomètres. Le nombre de mouches capturées dans la chambre de piégeage est recensé au bout d'une heure.

Tableau 2 : Nature des modalités testées en olfactomètre à une voie pour l'expérience 3

Modalité	Nature	Quantité utilisée
MO	-	-
M1	Concombre frais	30g
M2	Lanière « T »	1 cm
M3	Lanière « C1 »	0,33 cm
M4	Lanière « C2 »	0,20 cm
M5	Lanière « C1 » et « C2 »	0,33cm (C1) + 0,20cm (C2)

2.2.3 Expérience 3 : Choix du système de piégeage en conditions semi-naturelles

L'objectif de cette expérience est de sélectionner parmi deux pièges différents (Mc Phail (Biobest Belgium N.V, Westerlo, Belgique) et TephriTrap (Sorygar S.L, Madrid, Espagne)) celui étant le plus efficace pour le piégeage des femelles de *B. cucurbitae* en conditions semi-naturelles. L'expérience suit le dispositif général d'expérimentation décrit en [2.1.2](#). Les modalités testées sont référencées dans le Tableau 3. (cf. [1.1](#) concernant le matériel végétal utilisé). Dans chaque cage, deux pièges de type McPhail et deux pièges de type TephriTrap sont disposés. On procède à 4 répétitions de chaque modalité par jour, au total 16 répétitions sont effectuées. .

Tableau 3 : Composition des modalités testées en grandes cages de comportement dans un système de piégeage

Mode	Quantité de concombre (g)	Type de piège
M1	150	McPhail
M2	150	TephriTrap
M3	0	McPhail
M4	0	TephriTrap

2.2.4 Expérience 4 : Attractivité des lanières polymériques en conditions semi-naturelles

L'objectif de ce cette expérience est d'évaluer le taux d'attraction des femelles de *B. cucurbitae* en conditions semi-naturelles au mélange considéré dans le piège le plus efficace. L'expérience suit le dispositif général expérimentation décrit en [2.1.2](#). On utilise dans chaque cage quatre systèmes de piégeage de type TephriTrap . A l'intérieur, 0,30 cm de C1 et 0,20 cm de C2, sont disposées. Dans chaque cage, deux systèmes de piégeage sont utilisés comme témoin négatif et deux autres portent les lanières. On procède à 8 répétitions par jour et par modalité. Au total 16 répétitions de chaque modalité ont été évaluées.

2.2.5 Expérience 5 : Attractivité de plusieurs quantités de lanières en conditions semi-naturelles

L'objectif de cette expérience est d'évaluer le taux d'attraction des femelles de *B. cucurbitae* en conditions semi-naturelles au mélange considéré , suivant 4 quantités différentes (Tableau 4). L'expérience suit le dispositif expérimental décrit en [2.1.2](#). Dans chaque cage de comportement, on utilise 4 pièges de type TephriTrap, deux étant utilisés comme témoins et deux portant un mélange de même quantité. On procède à 2 répétitions par modalité et par jour. Au total, 12 répétitions de chaque modalités ont été réalisées.

Tableau 4 : Détails des quantités de lanières testées par modalité en conditions semi-naturelles

Modalité	Longueur Lanière C1(cm)	Longueur Lanière C2 (cm)
C10	3,3	2,0
C15	5	3
C40	13	8
C100	33	20

2.2.6 Expérience 6 Amélioration du dispositif de piégeage

L'objectif de cette expérience est de tester l'hypothèse suivant laquelle le faible taux d'attraction obtenu par les lanières polymériques en conditions contrôlées est dû à un manque d'efficacité du dispositif de piégeage. On teste le taux d'attraction de deux dispositifs de piégeage ayant subi des modifications. Une modalité S1 : Tephritrap de couleur noire, ouvertures périphérique en grillagée (permet l'entrée de mouche mais pas leur sortie), et son témoin négatif (S2).

Une modalité S3 : TephriTrap de couleur jaune, StickyTrap placé à l'intérieur du couvercle avec une couche supplémentaire de glue et son témoin négatif (S4). La procédure expérimentale suit le protocole décrit en [2.1.1](#). Les quatre modalités sont testées par cage, on procède à 4 répétitions par modalité et par jour, au total, 16 répétitions de chaque modalité ont été réalisées.

23 Analyses statistiques :

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (version 2.15.0, R Development Core Team, 2012, Vienne, Autriche). Pour chacune des expérimentations, afin de tester l'effet ces différents facteurs sur le taux d'attraction des femelles, un modèle linéaire généralisé (GLM) avec une distribution binomiale des erreurs et la fonction de lien logistique a été construit. Le test de rapport de vraisemblance basé sur le test du Khi-Deux (χ^2) a permis de tester la significativité des effets. Un test de comparaison de moyennes deux à deux, basé sur la méthode de Tukey HSD, a ensuite été réalisé, afin d'identifier quelle modalité diffère des autres.

Résultats et discussions

I Expérience 1: Attraction du nonanol en mélange

La nature du produit a un effet significatif sur le taux d'attraction des femelles de *B. cucurbitae* ($\chi^2 = 140.56$; $df = 10$; $p\text{-value} < 0.001$). Le test de comparaison binaire démontre que, pour quatre mélanges sur six, la présence de nonanol engendre une diminution du taux d'attraction (Figure 1). Cependant, le mélange B4 et B4s et le mélange B3 et B3s indique que le taux d'attraction des femelles n'est pas significativement différent (HSD Tukey, $p\text{-value} : 0,426$). Pour les autres mélanges testés (B1, B2, B5 et B6), la présence de nonanol diminue de manière significative le taux d'attraction des femelles. Parmi les mélanges testés, le mélange B1s, composé de (6Z)-non-6-én-1-ol et (2E,6Z)-nona-2,6-diéнал attire significativement plus de femelles de *B. cucurbitae*, $(62,9 (\%) \pm 7,4 \text{ SE})$.

Ces résultats attestent que, de manière générale, la présence de nonanol n'améliore pas le taux d'attraction des femelles. Au contraire, quatre mélanges sur six, ont montré une diminution du taux. Malgré le fait que le nonanol testé individuellement présentait un taux de d'attraction important $(48,89 (\%) \pm 4,89 \text{ SE})$ (Atiama-Nurbel et al., 2014), nos résultats montrent qu'en présence d'autres composés volatils d'intérêt, sa présence n'améliore pas le taux d'attraction des femelles. Ces résultats soulignent l'importance d'un mélange de composés volatils approprié. En effet, (Webster et al., 2010) ont pu démontrer en test de comportement en olfactomètre que la réponse des insectes peut être différente suivant une exposition à un mélange de composés volatils ou suivant une exposition aux mêmes composés mais présentés de manière individuelle. Le Nonanol est un composé déterminé comme étant récurant dans les profils d'émission des fruits (Siderhurst and Jang, 2010) En effet, sa présence a été déterminée dans les profils d'émission de *Eruca sativa* (Brassicaceae) (Jirovetz et al., 2002), *Psidium guajava* (Idstein and Schreier, 1985). Sa présence dans différentes familles suggère qu'il n'est pas essentiel pour l'attraction des femelles de *B. cucurbitae*. Le mélange le plus attractif reste donc le mélange à deux composés (6Z)-non-6-én-1-ol et (2E,6Z)-nona-2,6-diéнал avec un taux d'attraction en conditions de laboratoire de $(62,9 (\%) \pm 7,4)$

Ces résultats ont permis de compléter les résultats de Mme ATIAMA-NURBEL, et font l'objet d'un article soumis dans la revue *Journal of Economic Entomology* :

Atiama-Nurbel T., Ligonière A., Muller L., Deguine J.P., Bialecki A. and Quilici S. Which cucurbit volatiles are most attractive to gravid females of *Bactrocera cucurbitae* (Diptera, Tephritidae)?

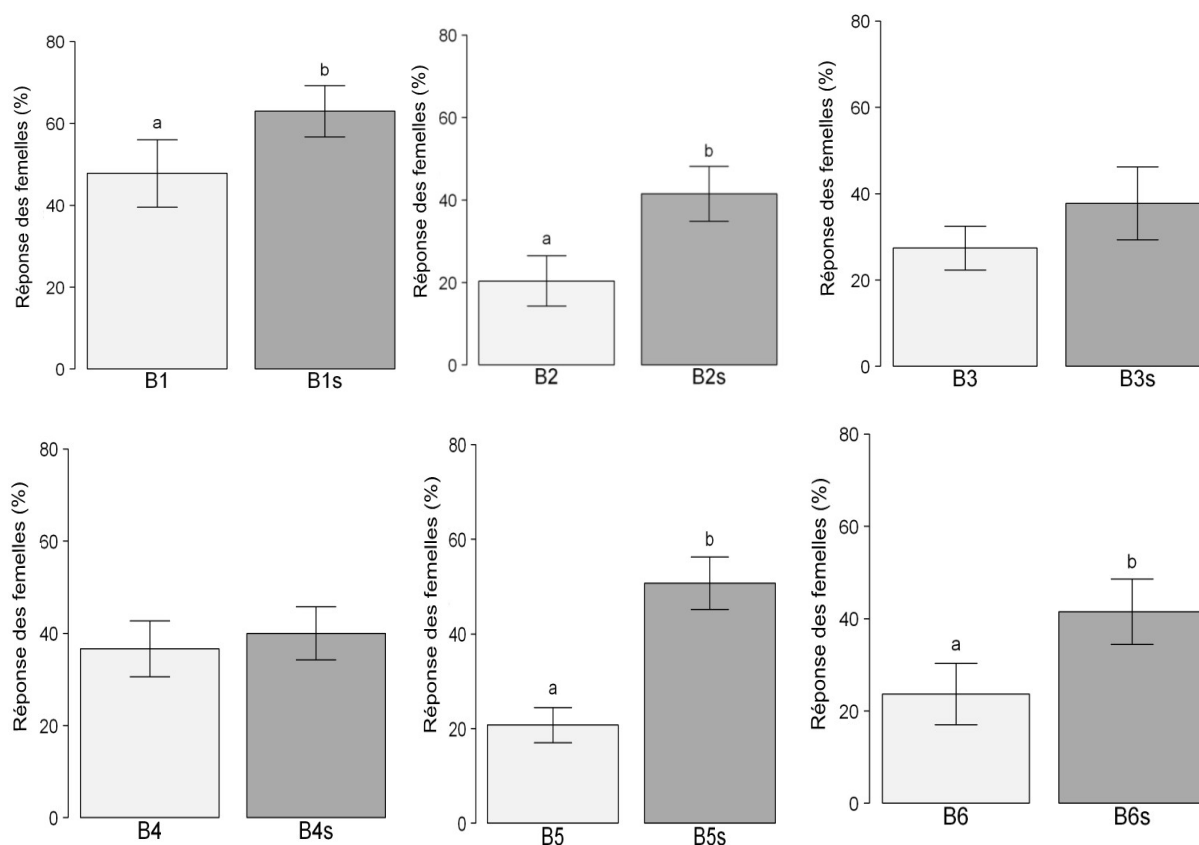


Figure 1 : Comparaison des taux d'attractivité (réponse des femelles (%)) de *Bactrocera cucurbitae* vis-à-vis de différents mélanges de composés volatils. B1 : Nonanol, Z-Non-6-én-1-ol, (E,Z)-Nona-2,6-diéнал ; B1s : Z-Non-6-én-1-ol, (E,Z)-Nona-2,6-diéнал ; B2 : Nonanol, Z-Non-6-én-1-ol ; B2s : Z-Non-6-én-1-ol ; B3 : Nonanol, (E,Z)-Nona-2,6-diéнал ; B3s : (E,Z)-Nona-2,6-diéнал ; B4 : Nonanol, Z-Non-6-énal ; B4s : Z-Non-6-énal ; B5 : Nonanol, Z-Non-6-én-1-ol, (E,Z)-Nona-2,6-diéнал ; B5s : Z-Non-6-én-1-ol, (E,Z)-Nona-2,6-diéнал ; B6 : Nonanol, Z-Non-6-énal, (E,Z)-Nona-2,6-diéнал ; B6s : Z-Non-6-énal, (E,Z)-Nona-2,6-diéнал

2 Expérience 2: Attractivité des lanières polymériques en conditions contrôlées

La nature des modalités testées a un effet significatif sur le taux d'attraction des femelles ($\chi^2 = 129.32$; $df = 6$; $p\text{-value} < 0.001$). Le test de comparaison binaire révèle la présence de trois groupes statistiquement différents (Figure 2). Le groupe (« c »), comprend le témoin négatif (M0) et la lanière T (M2). L'absence de différence significative (HSD Tukey, $p\text{-value} : 0.999$) entre ces deux modalités permet d'attester que la lanière témoin a le même taux d'attractivité que le témoin négatif et donc que la matrice polymérique composant les lanières actives n'est pas attractive pour les femelles de *B. cucurbitae*. Le groupe statistique (« b »), comprend les lanières du composé C1 (M3) et C2 (M4). Ces deux modalités ne sont pas différentes statistiquement entre elles (HSD Tukey , $p\text{-value} : 0.990$). Ces résultats confirment donc que les lanières C1 et C2, testées individuellement, attirent statistiquement plus de mouches que le témoin négatif (M0), mais qu'elles ont le même taux d'attraction entre elles. Le groupe statistique (« a »), comprend le témoin positif (M1), et le mélange des lanières C1 et C2 (M5). Ces résultats montrent qu'en mélange, les composés attirent statistiquement plus de femelles de *B. cucurbitae* qu'individuellement. L'absence de différence significative entre la modalité M5 et le témoin positif permet de dire que les lanières des composés C1 et C2 en mélange engendrent un taux d'attraction des femelles égal à celui du témoin positif (HSD Tukey , $p\text{-value} : 0.999$). Ainsi, les longueurs de lanières calculées à partir des taux de diffusion des composés purs sont efficaces en conditions contrôlées.

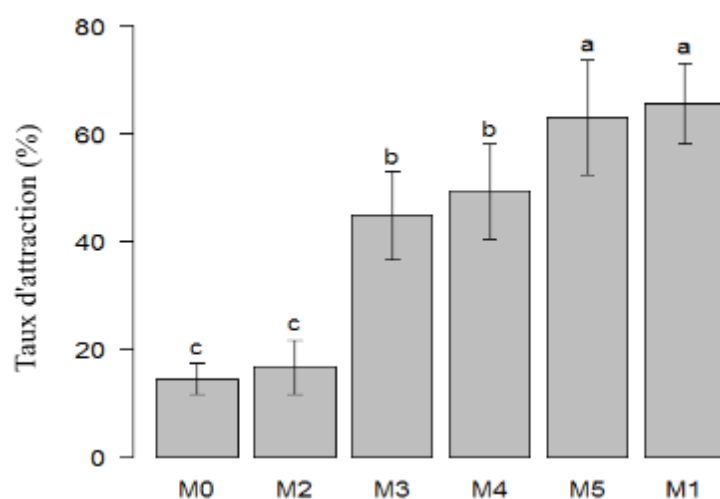


Figure 2 : Taux d'attraction des femelles (%) de *Bactrocera cucurbitae* à différents mélanges de composés volatils (M0 : Témoin négatif, M1: Témoin positif, M2 : Lanière T, M3 : Lanière C1, M4 : Lanière C2, M5 : Lanières C1 et C2)

3 Expérience 3: Choix du système de piégeage en conditions semi-naturelles

Une différence significative du taux d'attraction des femelles de *B. cucurbitae* est observée suivant le dispositif de piégeage testé ($\chi^2 = 112,98$; $df = 5$; $p\text{-value} < 0.001$). Le test de comparaison binaire révèle la présence de trois groupes statistiquement différents (Figure 3). Les modalités M3 et M4 relatives aux témoins négatifs des deux pièges ne sont pas différentes statistiquement entre elles (HSD Tukey, $p\text{-value} : 0,900$), signifiant que leur taux d'attractivité ne sont pas statistiquement différents. Les témoins négatifs (M3 et M4) et les témoins positifs (M1 et M2) faisant partie de deux groupes statistiquement différents permet d'affirmer que l'odeur du concombre est attractive en conditions extérieures pour les femelles de *B. cucurbitae*, validant ainsi le dispositif expérimental mis en place. De plus, les modalités M1 et M2 font partie de deux groupes statistiquement différents, impliquant une différence significative du taux d'attraction (HSD Tukey, $p\text{-value} : < 1.10^{-6}$), des deux types de pièges considérés. En effet, le piège M1 (Mc Phail) est communément utilisé dans le piégeage des insectes (Cardé and Willis, (2008) et ;Siderhurst and Jang, (2010)), utilisent des pièges de type Mc Phail pour piéger les femelles de *B. cucurbitae* gravides par des composés de synthèse issus des cucurbitacées, mais sous forme de composés synthétiques liquides. L'efficacité du piège TephriTrap a pu être démontrée dans plusieurs études, notamment dans celle de Epsky et al. (1999), spécifiquement pour les Tephritidae comme *Ceratitis capitata*. D'après nos résultats, il s'avère qu'en association avec les lanières polymériques, le piège de type TephriTrap est significativement plus efficace pour le piégeage des femelles de *B. cucurbitae* (taux d'attraction (%) : $32 \pm 0,08$) par rapport au piège Mc Phail (taux d'attraction (%) : $21 \pm 0,80$). En effet, le piège TephriTrap a l'avantage d'avoir des ouvertures en sa circonférence, créant un mouvement d'air indispensable à la dispersion des composés volatils, créant un panache d'odeur (Cardé and Willis, 2008). La présence d'un panache d'odeur est indispensable pour la localisation à distance des plantes-hôtes par les femelles de *B. cucurbitae* (Cornelius et al., 2000) . En effet, ces insectes utilisent le principe de l'anémotaxie positive pour s'orienter dans leur environnement. Cela signifie que les femelles se déplacent contre le flux d'air et se dirigent vers la source de l'odeur en amont (Cardé and Willis, 2008) . Suivant le dispositif mis en place, le système de piégeage de type TephriTrap s'avère significativement plus efficace pour la capture des femelles de *B. cucurbitae*.

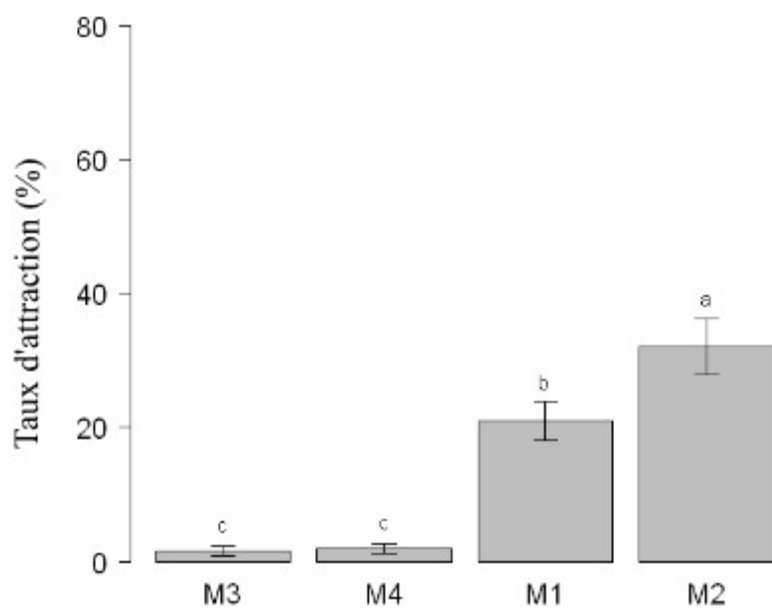


Figure 3 : Taux d'attraction des femelles de *Bactrocera cucurbitae* à différents systèmes de piégeages (M1 : Mc Phail et concombre, M2 : TephriTrap et concombre, M3 : Mc Phail sans concombre, M4 : TephriTrap sans concombre)

4 Expérience 4 : Attractivité des lanières polymériques en conditions semi-naturelles

Aucune différence significative n'est observée entre les modalités testées ($\chi^2 = 0,012$, $df = 2$, $p\text{-value} = 1$). En effet, le taux d'attraction de la lanière polymérique en conditions semi-naturelles est de $6,25 \pm 4,20$ (%), contre $4,5 \pm 1,91$ (%) pour le témoin négatif. Ces résultats attestent de l'inefficacité d'attraction des lanières polymériques en conditions semi-naturelles. Face à ces résultats, deux hypothèses peuvent être posées. L'hypothèse 1 se base sur l'insuffisance de quantité de lanières polymériques pour permettre la perception des composés volatils par les femelles. En effet, l'attractivité des lanières avait été validée en conditions de laboratoire, cependant l'environnement considéré en conditions semi-naturelles a un volume plus important. Pour répondre à cette hypothèse, différentes quantités de lanières doivent être testées en conditions semi-naturelles. L'hypothèse 2 se base sur le manque d'efficacité du piège. La principale hypothèse expliquant le manque d'efficacité du piège repose sur le manque d'adhésion du StickyTrap, permettant aux mouches piégées de se libérer de celui-ci (observation personnelle). Il est donc important de reconsidérer le système de piégeage afin d'augmenter son efficacité.

5 Expérience 5 : Attractivité de plusieurs quantités de lanières en conditions semi-naturelles

Les taux d'attraction obtenus pour les différentes quantités de lanière varient entre $1,5 \pm 2,82$ (%) pour la quantité C100 et $5,5 \pm 2,12$ (%) pour la quantité C10 . L'ensemble des taux d'attraction des différentes quantités permettent d'affirmer que l'augmentation de la quantité de lanière polymérique d'un facteur 10, 15 ; 40 et 100, n'améliore pas le taux d'attraction des femelles de *B. cucurbitae* (Tableau 5). Ces résultats ne permettent pas de valider l'hypothèse suivant laquelle, la quantité de lanière testée en conditions contrôlée n'est pas suffisante pour avoir un taux d'attraction significativement différent du témoin.

Nature	Taux d'attraction (%) \pm SE
C10	$5,5 \pm 2,12$
T_C10	$6,5 \pm 3,54$
C15	$4,5 \pm 0,70$
T_C15	$6,5 \pm 6,36$
C40	$3 \pm 6,36$
T_C40	$6,5 \pm 5,53$
C100	$1,5 \pm 2,82$
T_C100	$6,5 \pm 3,54$

Tableau 5 : Taux d'attraction des femelles de *Bactrocera cucurbitae* a des lanières polymériques de différentes quantités (C10, C15, C40, C100) et leur témoin négatif (T_C10, T_C15, T_C40, T_C100) en grandes cages de comportement dans un dispositif de piégeage de type TephriTrap.

6 Expérience 6 : Amélioration du système de piégeage

La nature du dispositif de piégeage a un effet significatif sur le taux d'attraction des femelles de *B. cucurbitae* ($\chi^2 = 95,64$, $df = 5$, $p\text{-value} = < 0.001$). Le test de comparaison binaire met en évidence trois groupes statistiquement différents. Les modalités S1 et S2 ne sont pas significativement différentes (HSD Tukey, $p\text{-value} : 1$), leur taux d'attraction est faible ($0,31 \pm 0,08$ (%) pour S1 et 0 % pour S2). Ces résultats montrent bien l'importance des stimuli visuels pour les femelles de *B. cucurbitae*. En effet, l'efficacité de ces pièges avait été démontrée dans l'étude de Brévault and Quilici (2010) chez la mouche de la tomate, *Neoceratitis cyanescens*. L'étude de Piñero et al. (2006) a démontré l'importance des stimuli visuels et olfactifs dans l'attraction des femelles de *B. cucurbitae*. En effet, la présence de concombre frais, en association d'une sphère de couleur jaune augmente significativement l'attraction de femelles de *B. cucurbitae*. Nos résultats relèvent une différence significative pour les modalités S3 et S4 (HSD Tukey, $p\text{-value} = < 0,001$). Le taux d'attraction moyen est de $18,38 \pm 1,06$ (%) pour S3 et de $4,5 \pm 1,85$ pour S4. Ces résultats permettent d'attester que la modalité S3 a un taux d'attraction significativement plus élevé que la modalité S4. Ainsi, les modifications apportées au dispositif de piégeage S3 ont permis d'améliorer de manière significative le taux d'attraction des femelles de *B. cucurbitae*. Cette expérience a donc permis d'augmenter l'efficacité du système de piégeage. De ce fait, le manque d'efficacité du système de piégeage était dû au manque d'adhésion du StickyTrap, permettant aux mouches piégées de se libérer. En effet, les StickyTrap sont utilisés pour piéger des insectes de petites tailles, tels que les pucerons, les aleurodes, les thrips. (Koppert, site internet) La quantité de glue présente sur le Sticky Trap n'était donc pas suffisante pour piéger de manière efficace les femelles.

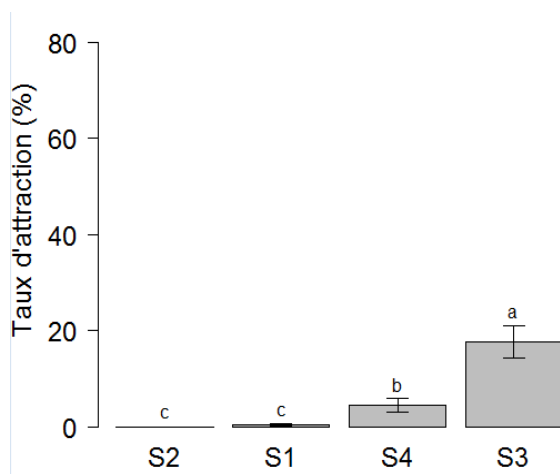


Figure 6 : Taux d'attraction des femelles de *B. cucurbitae* suivant différents dispositifs de piégeage en conditions semi-naturelles. S1: TephriTrap noir avec lanière polymérique, S2 : TephriTrap noir témoin, S3 : TephriTrap jaune, S4 : TephriTrap jaune témoin

Conclusion et perspectives :

Les travaux réalisés au cours de ce stage se sont inscrits dans la gestion durable des populations des femelles de *B. cucurbitae*. La mise au point d'un dispositif de piégeage, comprenant un diffuseur et un piège efficace pour les femelles de *B. cucurbitae* a été réalisé.

La réalisation de tests comportementaux en conditions contrôlées a permis de comparer le taux d'attraction des femelles à des mélanges contenant ou non un composé volatil, le nonanol. La réalisation de 12 mélanges différents en olfactomètre à une voie a permis de conclure que la présence de nonanol n'améliore pas le taux d'attraction des femelles. Ces résultats ont permis de déterminer le mélange de composés volatils étant le plus attractif pour les femelles, composé de (6Z)-non-6-én-1-ol et le (2E,6Z)-nona-2,6-diéнал.

Le deuxième objectif a été d'évaluer l'efficacité des lanières polymériques intégrant ce mélange en conditions contrôlées en vue d'une application en conditions semi-naturelles. La réalisation de tests comportementaux en conditions contrôlées a validé l'efficacité des diffuseurs, leur taux d'attractivité n'étant statistiquement pas différent du témoin positif.

Le troisième objectif a été de définir en conditions semi-naturelles le dispositif expérimental le plus efficace pour le piégeage des femelles. La réalisation de tests comportementaux en conditions semi-naturelles a permis d'évaluer l'efficacité maximale de piégeage de deux pièges (Mc Phail et TephriTrap). Les taux d'attraction des différentes modalités ont permis de définir le piège TephriTrap comme étant le plus efficace pour la capture des femelles de *B. cucurbitae* en conditions semi-naturelles.

Le quatrième objectif a été d'évaluer l'efficacité du dispositif de piégeage complet (piège et lanière) en conditions semi-naturelles. Les taux d'attraction obtenus étant faibles et non différents statistiquement des taux d'attraction des témoins négatifs, une reconsidération du dispositif de piégeage a été réalisée afin d'améliorer l'efficacité du dispositif de piégeage.

Deux hypothèses principales ont été testées. La première se base sur une quantité de composés relargués insuffisante pour être perçue par les femelles. De ce fait, une augmentation des quantités d'un facteur 4, 10, 15 et 100 a été testée en conditions semi-naturelles. Les taux d'attraction obtenus n'ont pas permis de mettre en évidence une différence significative. Concluant que les quantités de lanières testées n'ont pas permis d'améliorer le taux d'attraction des femelles de *B. cucurbitae*. La deuxième hypothèse se basant sur l'inefficacité de capture des femelles, due à la possible sortie du piège des femelles a été testée. Afin de répondre à cette hypothèse, deux systèmes de piégeage différents ont été testés. Les résultats obtenus ont permis d'identifier un piège engendrant un taux d'attraction des femelles significativement différents du témoin négatif. Ces

résultats permettent de conclure que l'absence d'attraction en conditions semi-naturelles était due à un manque d'efficacité du piège. Les modifications apportées ont permis d'améliorer le système de piégeage afin d'empêcher la sortie des mouches attirées.

Les résultats obtenus sont encourageants pour permettre le piégeage de masse des femelles de *B. cucubita* en champ. L'efficacité du diffuseur de type lanière polymérique a été validée en conditions semi-naturelles en association avec piège TephriTrap. Cependant, des travaux sont encore à mener afin d'améliorer l'efficacité du dispositif de piégeage. L'étude de Piñero et *al.*, (2006) a permis d'identifier les stimuli visuels des femelles de *B. cucurbitae*, ainsi, nous pourrions imaginer un piège, de forme hémicylindrique de couleur « vert chartreuse », dans lequel serait contenu le diffuseur. De plus, plusieurs études ont permis d'affirmer que le ratio en composés volatils a un impact sur le taux d'attraction des insectes phytophage ((Bruce et *al.*, 2005 ; Natale et *al.*, 2003). Il s'avère donc intéressant d'évaluer le taux d'attraction des femelles de *B. cucurbitae* suivant différents ratios des deux composés. Ces expérimentations permettraient d'améliorer l'efficacité du piège et du diffuseur. D'autres considérations, avant une application en champ, sont à envisager. La possible attraction d'espèces non-cibles est à considérer. En effet, la couleur jaune est attractive pour la majorité des diptères (Bernays and Chapman, 1994). L'attraction d'autres espèces de la famille des mouches des fruits est envisageable. Les espèces *Dacus ciliatus* et *Dacus demmerezi* sont elles aussi inféodées à la famille des Cucurbitacées. L'étude de l'attraction de ces espèces pour le dispositif de piégeage s'avère être une perspective d'étude intéressante dans la gestion agro-écologique des populations de mouche des fruits à La Réunion.

Glossaire :

Chromatographie en phase gazeuse : technique permettant de séparer des molécules d'un mélange complexe de nature très diverses. Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition.

Electroantennographie : technique d'électrophysiologie utilisée sur les antennes d'insectes.

Gravide : se dit d'une femelle prête à pondre pour les ovipares

Kairomones : substance chémiochimique volatile ou mobile, produite par un être vivant et libérée dans l'environnement, qui déclenche une réponse comportementale chez une autre espèce (récepteur), procurant un bénéfice à ce dernier.

Microextraction en phase solide (SPME) : une technique d'extraction, permettant de réaliser une extraction et une concentration de composés qui se trouvent à l'état de traces dans un liquide ou un gaz.

Oligophagie : se dit du régime alimentaire de certains insectes s'attaquant aux plantes d'une même famille végétale.

Oviposition : Action de déposer des œufs.

Para-phéromone : Substance chimique qui imite l'action des phéromones

Polyphagie : capacité des insectes à s'alimenter sur une grande variété d'ordres de plantes appartenant même parfois à plusieurs classes.

Pupe : résultant de la pupaison (transformation d'une larve de diptère en nymphe)

Sémiochimique : qualifie une substance chimique émise par une plante ou un animal dans l'environnement et qui a valeur de signal entre les êtres vivants

Stimuli : facteur externe ou interne entraînant une réaction chez un organisme vivant

Références

- Atiama-Nurbel, T., Bouly, T., Deguine, J., Bialecki, A., and Quilici, S. (2014). Factors influencing the response of *Bactrocera cucurbitae* female to host fruit odors. *Physiological Entomology. Physiol. Entomol.*
- Bernays, E.A., and Chapman, R.F. (1994). *Host-Plant Selection by Phytophagous Insects* (Springer).
- Bradbury, J.W., and Vehrencamp, S.L. (2000). Economic models of animal communication. *Anim. Behav.* 59, 259–268.
- Brévault, T., and Quilici, S. (2010). Interaction Between Visual and Olfactory Cues During Host Finding in the Tomato Fruit Fly *Neoceratitis cyanescens*. *J. Chem. Ecol.* 36, 249–259.
- Bruce, T.J., and Pickett, J.A. (2011). Perception of plant volatile blends by herbivorous insects—finding the right mix. *Phytochemistry* 72, 1605–1611.
- Bruce, T.J.A., Wadhams, L.J., and Woodcock, C.M. (2005). Insect host location: a volatile situation. *Trends Plant Sci.* 10, 269–274.
- Cardé, R.T., and Willis, M.A. (2008). Navigational Strategies Used by Insects to Find Distant, Wind-Borne Sources of Odor. *J. Chem. Ecol.* 34, 854–866.
- Cornelius, M.L., Duan, J.J., and Messing, R.H. (2000). Volatile host fruit odors as attractants for the oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 93, 93–100.
- Epsky, N.D., Hendrichs, J., Katsoyannos, B.I., Vasquez, L.A., Ros, J.P., Zumreoglu, A., Pereira, R., Bakri, A., Seewooruthun, S.I., and Heath, R.R. (1999). Field evaluation of female-targeted trapping systems for *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in seven countries. *J. Econ. Entomol.* 92, 156–164.
- Idstein, H., and Schreier, P. (1985). Volatile constituents from guava (*Psidium guajava*, L.) fruit. *J. Agric. Food Chem.* 33, 138–143.
- Jirovetz, L., Smith, D., and Buchbauer, G. (2002). Aroma compound analysis of *Eruca sativa* (Brassicaceae) SPME headspace leaf samples using GC, GC-MS, and olfactometry. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4643–4646.
- Miller, N.W., Vargas, R.I., Prokopy, R.J., and Mackey, B.E. (2004). State-Dependent Attractiveness of Protein Bait and Host Fruit Odor to *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) Females. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 97, 1063–1068.
- Natale, D., Mattiacci, L., Hern, A., Pasqualini, E., and Dorn, S. (2003). Response of female *Cydia molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) to plant derived volatiles. *Bull. Entomol. Res.* 93, 335–342.
- Piñero, J.C., Jácome, I., Vargas, R., and Prokopy, R.J. (2006). Response of female melon fly, *Bactrocera cucurbitae*, to host-associated visual and olfactory stimuli. *Entomol. Exp. Appl.* 121, 261–269.
- Siderhurst, M.S., and Jang, E.B. (2010). Cucumber Volatile Blend Attractive to Female Melon Fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett). *J. Chem. Ecol.* 36, 699–708.

Vayssieres, J.-F., and Carel, Y. (1999). Les Dacini(Diptera: Tephritidae) inféodés aux Cucurbitaceae à la Réunion: Gamme de plantes-hôtes et stades phénologiques preferentiels des fruits au moment de la piqure pour des espèces cultivées. In Annales de La Société Entomologique de France, (Société entomologique de France), pp. 197–202.

Visser, J.H., and Jong, R. de (1988). Olfactory coding in the perception of semiochemicals. *J. Chem. Ecol.* 14, 2005–2018.

Webster, B., Bruce, T., Pickett, J., and Hardie, J. (2010). Volatiles functioning as host cues in a blend become nonhost cues when presented alone to the black bean aphid. *Anim. Behav.* 79, 451–457.